UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER. — FACULTE DE PHARMACIE N° 138

QUELQUES RECHERCHES

SUR LES

POUDRES D'OVAIRES

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le Mars 1924

PAR

Pierre COUTANCEAU

PHARMACIEN DE 1re CLASSE

Pour obtenir le Diplôme de Docteur de l'Université de Montpellier (Mention Pharmacie)

JURY : MM. ASTRUC, Professeur, *Président*.
TARBOURIECH, Professeur
CANALS, chargé d'agrégation. } *Assesseurs*

MONTPELLIER
IMPRIMERIE FIRMIN ET MONTANE
Rue Ferdinand-Fabre et Quai du Verdanson
1924

QUELQUES RECHERCHES

SUR LES

POUDRES D'OVAIRES

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER. — FACULTÉ DE PHARMACIE N° 138

QUELQUES RECHERCHES

SUR LES

POUDRES D'OVAIRES

THÈSE

Presentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le Mars 1924

PAR

Pierre COUTANCEAU

PHARMACIEN DE 1re CLASSE

Pour obtenir le Diplôme de Docteur de l'Université de Montpellier (Mention Pharmacie)

JURY : MM. ASTRUC, Professeur, *Président*.
TARBOURIECH, Professeur. } *Assesseurs*.
CANALS, chargé d'agrégation. }

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

MONTPELLIER
IMPRIMERIE FIRMIN ET MONTANE
Rue Ferdinand-Fabre et Quai du Verdanson
1924

Faculté de Pharmacie de Montpellier

ADMINISTRATION

MM. G. MASSOL (✻, I. P. ✪) . . . *Doyen.*
A. ASTRUC (✻, I. P. ✪). . . . *Assesseur.*
GILLET (✻, ⚕, A. ✪). . . . *Secrétaire.*
GOT (I. P. ✪) et IZARD (I. P. ✪) *Secrétaires honoraires.*

PROFESSEURS

MM. G. MASSOL (✻, I. P. ✪) . . . *Physique appliquée.*
H. IMBERT (I. P. ✪) . . . . . *Analyse chimique.*
H. FONZES-DIACON (✻, I. P. ✪, ★). *Chimie minérale.*
A. ASTRUC (✻, I. P. ✪) . . . *Pharmacie galénique et industrielle.*
HOLLANDE (I. P. ✪). . . . . *Histoire naturelle des médicaments. Botanique.*
P.-J. TARBOURIECH (✻, I. P. ✪) *Chimie organique.*
A. JUILLET (I. P. ✪) . . . . . *Matière médicale.*
A. FAUCON (✻, C. ✠, A. ✪, ★). *Pharmacie chimique.*

PROFESSEURS HONORAIRES

M. F. JADIN (✻, I. P. ✪), doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
L. COURCHET (✻, I. P. ✪) et ASTRE (I. P. ✪)

CHARGÉS DE COURS

MM. H. IMBERT (I. P. ✪). . . . . *Toxicologie.*
A. ASTRUC (✻, I. P. ✪). . . *Hydrologie.*
P. J. TARBOURIECH (✻, I P ✪) *Chimie biologique.*
A. JUILLET, (I. P. ✪). . . . *Zoologie.*
M.-A. FAUCON (✻, C. ✠ A. ✪, ★) *Pharmacie chimique.*
L. EMBERGER . . . . . *Botanique.*
MOYE, pr. Fac. Droit (✻, I. P. ✪) *Législation pharmaceutique.*

AGRÉGÉS

E. CANALS (A. ✪), chargé d'agrégation.
L. EMBERGER, chargé d'agrégation.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

E. CANALS (A. ✪) . . . . . *Physique.*
L. FARRÉ (A. ✪) . . . . . *Chimie et Pharmacie.*
N . . . . . *Histoire naturelle.*

NOTA. — La Faculté de Pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats dans les Thèses ou Synthèses qui lui sont présentées.

A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE

A MON PÈRE

A MES SŒURS

MEIS ET AMICIS

P. COUTANCEAU.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR ASTRUC

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

A MONSIEUR LE PROFESSEUR TARBOURIECH

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

A MONSIEUR CANALS

DOCTEUR ÈS-SCIENCES, CHARGÉ D'AGRÉGATION

P. COUTANCEAU.

QUELQUES RECHERCHES

SUR LES

POUDRES D'OVAIRES

INTRODUCTION

La médication organothérapique remonte aux temps les plus reculés de l'histoire.

Hébreux, Grecs, Romains, Hindoux eux-mêmes, malgré leur croyance à la métempsychose, eurent recours aux remèdes d'origine animale.

Homère raconte comment Chiron le Centaure fortifiait Achille en lui faisant ingérer de la moelle de lion. Hippocrate, Dioscoride, Galien, Pline utilisent de nombreux remèdes animaux : fiel de taureau en suppositoires avec du miel contre l'engorgement intestinal, cervelle de vautour dans l'épilepsie, foie de loup dans la jaunisse...

Pour Pline, ces médicaments constituent des remèdes vivants.

Le Moyen-Age continue la tradition. Mesué dresse une longue liste des drogues animales que tout apothicaire doit avoir dans sa boutique. Albert le Grand avance que tout être communique aux choses auxquelles on l'unit ses propriétés naturelles. Il utilise la cervelle de chameau, de

lion, de lièvre dans l'épilepsie et la folie, les rognons du hérisson, le foie et les poumons du loup et du renard...

La méthode organothérapique, très en faveur pendant la Renaissance, voit le discrédit à la fin du XVIII[e] siècle.

« Le règne animal ne fournit à présent à la pharmacie qu'un petit nombre de substances; sang de bouctin, crapauds, poumons de renard, vers de terre, foie de loup, frai de grenouille sont aujourd'hui très peu en usage, et avec raison... La très ancienne pharmacie faisait entrer dans son code de matière médicale beaucoup de substances animales dégoûtantes et qu'on ne peut même nommer sans répugnance. A mesure que les connaissances se sont développées, on les a rejetées; il y en a encore beaucoup qui devraient subir le même sort, mais l'illusion qu'on s'est formée sur leurs vertus n'est pas encore généralement dissipée » [1].

Le sirop de mou de veau est seul inscrit au Codex de 1866, celui de limaçon seul dans la Pharmacopée de 1884.

Le XIX[e] siècle voit renaître l'organothérapie. Claude Bernard pose le principe des sécrétions internes. Brown Séquard expose le résultat de ses expériences sur l'action thérapeutique de l'extrait testiculaire [2]. Par la généralisation qu'il en tire concernant une action analogue d'autres extraits organiques, il est conduit à admettre « que chaque tissu, et plus généralement chaque cellule, de l'organisme, secrète pour son propre compte des produits ou des ferments spéciaux qui sont versés dans le sang et qui viennent influencer, par l'intermédiaire de ce liquide,

---

[1] BAUMÉ. Eléments de Pharmacie, 1797, p. 77.

[2] BROWN-SEQUARD. Des effets produits chez l'homme par des injections sous-cutanées d'un liquide retiré des testicules de cobayes et de lapins. *C. R. Soc. Biol.*, juin 1889, p. 415.

toutes les autres cellules, rendues ainsi solidaires les unes des autres par un mécanisme autre que le système nerveux » [1].

Parmi ces sécrétions internes, il en est de nutritives, d'excitantes et d'autres qui sont modératrices ; ce sont des agents d'équilibre qui assurent le fonctionnement normal de notre vie. Si, pour une cause quelconque, par suite de l'altération ou de l'ablation des glandes internes qui les produisent, ces sécrétions sont modifiées quantitativement ou même qualitativement, il en survient des troubles pathologiques plus ou moins graves, troubles que l'on peut combattre en restituant à l'organisme les principes quelque peu mystérieux qui lui font défaut.

C'est la reprise, d'une façon scientifique, de l'organothérapie.

L'opothérapie ovarienne entre dans la pratique médicale dès 1895 et, sous la forme galénique de « poudres d'ovaires », sera l'un des remèdes d'origine animale les plus employés.

Sur les conseils de notre maître, M. le professeur Astruc, nous avons entrepris ces quelques recherches sur les poudres d'ovaires [2].

Nous débuterons par quelques données générales sur les ovaires et leurs glandes à sécrétion interne.

Dans une seconde partie, nous étudierons la composition des poudres d'ovaires : composition saline, teneur en lipoïdes insaponifiables et en acides gras.

---

[1] Brown-Sequard et d'Arsonval. C. R. Soc. Biologie, avril 1891, t. 43, p. 215.

[2] Voir aussi : Canals (E.) et Coutanceau (P.). Quelques recherches sur les Poudres d'ovaires. A. F. A. S., Bordeaux, 1923.

Dans une troisième partie, nous déterminerons la concentration en ions hydrogène de ces poudres.

La recherche des ferments (invertine, amylase, pepsine, trypsine) fera l'objet d'une quatrième partie.

Avant d'aborder notre sujet, M. le professeur Astruc nous permettra de lui exprimer ici notre profonde gratitude pour la manière dont il voulut bien nous accueillir dans son laboratoire, laboratoire où il sait faire régner une atmosphère vraiment familiale.

Avec sa haute compétence, il nous suscita les recherches à faire et la voie à suivre.

Toute notre reconnaissance va également vers M. le professeur Canals, docteur ès sciences, agrégé de pharmacie.

Malgré ses travaux personnels, il ne nous ménagea jamais ni les conseils ni les encouragements.

Nous remercions très sincèrement M. le professeur Tarbouriech de l'honneur qu'il nous fait en voulant bien faire partie de notre jury de thèse.

Nous tenons à remercier, bien vivement, ici, M. Byla, qui, non seulement nous fournit gracieusement les poudres types sur lesquelles nous avons opéré, mais nous reçut pendant près d'un mois dans ses laboratoires.

M. Pénau, docteur ès sciences, directeur technique des établissements de Gentilly, malgré un travail excessif, ne négligea rien de ce qui pouvait nous intéresser et nous être utile. Nous lui en gardons une profonde reconnaissance.

Nous remercions bien vivement M. Simonet, médecin vétérinaire, chef de laboratoire aux établissements Byla. Sous sa direction, nous avions commencé l'étude histologique et microscopique des poudres d'ovaires. Malheureusement, ces essais sont trop peu nombreux pour pouvoir trouver une place ici.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

QUELQUES DONNEES GENERALES SUR L'OVAIRE ET SES GLANDES A SECRETION INTERNE

Les ovaires, glandes génitales femelles, sont représentés par deux organes symétriques, l'un droit, l'autre gauche, situés dans l'excavation pelvienne, sur les côtés de l'utérus.

Chez l'adulte, l'ovaire revêt la forme d'un ellipsoïde aplati dont le grand axe mesure environ deux fois la longueur du petit axe (36 mm., 17 mm., 12 mm.). Certaines conditions physiologiques (menstruation et grossesse) ont une influence considérable sur le volume de l'ovaire. Pendant la menstruation, celui des deux ovaires qui doit donner l'ovule acquiert un volume double ou triple de son volume primitif.

De même, pendant les premiers mois de la grossesse, l'ovaire sur lequel se trouve le corps jaune est plus volumineux.

Le poids varie avec le volume; il est en moyenne de 6 à 8 grammes chez l'adulte.

L'ovaire n'est pas recouvert par le péritoine et est libre dans la cavité péritonéale dans presque toute son étendue;

son bord antérieur seulement est rattaché par un repli péritonéal (mesovarium) au feuillet postérieur des ligaments larges. C'est par cette ligne d'attache, hile de l'ovaire, que pénètrent les vaisseaux et les nerfs.

Les ovaires sont, en outre, fixés dans la position qu'ils occupent par trois faisceaux musculaires, ligaments utéro-ovarien, tubo-ovarien, lombo-ovarien.

Au point de vue de sa structure anatomique, l'ovaire présente :

Un épithélium formé d'une seule couche de cellules. Cet épithélium fait défaut au niveau du hile, où il se continue brusquement avec l'endothélium péritonéal du ligament large.

Au-dessous de l'épithélium s'étale le parenchyme ovarique, constitué chez les sujets jeunes de deux zones :

Une zone corticale ou zone ovigène ayant pour base un stroma conjonctif dense peu vascularisé dans lequel sont contenus de nombreux ovisacs ou follicules de de Graaf à divers stades de développement.

La zone médullaire forme la masse principale de l'ovaire. Elle est constituée par du tissu conjonctif avec fibres musculaires lisses et de nombreux vaisseaux qui partent du centre pour rayonner vers la périphérie.

L'ovaire constitue donc le milieu au sein duquel les ovules originaires de l'épithélium cœlomique se rassemblent pour effectuer leur évolution. Le nom de glande sexuelle ne lui convient donc que si on envisage les éléments de sa sécrétion interne : cellules interstitielles et corps jaune.

Le corps jaune — La déhiscence de l'ovisac laisse sur l'ovaire une solution de continuité qui se comble par formation d'un tissu spécial, connu sous le nom de corps jaune. D'abord rouge, il est ensuite jaune orange (*corpus*

luteum), puis blanc. Après une période de croissance, il entre en régression et n'est bientôt plus qu'une cicatrice superficielle, irrégulière et blanchâtre.

On a distingué deux variétés de corps jaunes :

a) Les corps jaunes périodiques ou de la menstruation, qui se forment à chaque période de la menstruation, alors que l'ovule n'a pas été fécondé ;

b) Les corps jaunes de la grossesse qui se produisent dans le cas où l'ovule fécondé se fixe sur la muqueuse utérine.

Ces deux variétés ne diffèrent que par leur durée, la période d'état est de huit jours pour les premiers, de quatre à cinq mois pour les seconds.

Dans les dix premiers jours qui suivent la rupture de l'ovisac, le corps jaune est représenté par un foyer hématique, entouré d'une membrane épithéliale provenant des enveloppes folliculaires. Bientôt la surface externe de cette membrane présente un aspect gaufré et se montre pénétrée par des bourgeons conjonctivo-vasculaires. Ces bourgeons, à direction radiaire, délimitent des lobules formés d'éléments volumineux, ayant l'aspect d'un épithélium à cytoplasme spongieux, dont les mailles sont pleines de graisse et d'un pigment connu sous le nom de lutéine. Pigment du groupe des lipochromes, qu'Escher a identifié à la carottine [1].

Les cellules à lutéine présent : un, deux, trois noyaux arrondis [2]. Elles se multiplient au début par mitose ; plus tard, elles s'hypertrophient sans se diviser.

---

[1] Escher. Uber den Farbstoff des Corpus Luteum. *Zeitsch. f. physiol.* Chem. 1913, p. 198, *in Journal de Pharmacie et Chimie*, 1913, t. VIII, p. 126.

[2] Branca. Histologie, 1906, p. 603 (Baillière).

Puis, les bourgeons vasculo-conjonctifs émettent par leurs faces latérales des capillaires, sans gaine conjonctive, qui fragmentent les lobes épithéliaux du corps jaune. Au sommet, les cellules pénètrent dans le caillot sanguin dont elles prennent la place.

Au fur et à mesure que la régression continue, le caillot sanguin se transforme en un noyau fibreux. Puis, les cellules à lutéine perdent graisse et pigment, diminuent de volume et s'atrophient.

Finalement, le corps jaune n'est plus qu'une cicatrice à aspect lobulé, enclavée dans le tissu ovarien.

Le corps jaune ne fut longtemps considéré qu' « un simple bouchon destiné à oblitérer le follicule rompué ».

Avec Prenant, le corps jaune est élevé au rang de glande et de simple cicatrice, il devient le *primum movens* de la physiologie génitale femelle. On lui attribue maintenant jusqu'à 25 fonctions [1] : action sur l'ovulation, la menstruation, les échanges respiratoires, le développement des glandes mammaires, la sécrétion lactée, sur la nutrition de l'utérus...

N'apparaissant que par intervalles, le corps jaune constitue une glande à sécrétion transitoire. A ses côtés existe dans l'ovaire une glande permanente, fonctionnant pendant toute la durée de la vie : la glande interstitielle.

Ce tissu interstitiel, abondant, ne serait pas un simple élément de remplissage, mais jouerait un rôle glandulaire net, indiqué par l'orientation spéciale autour des vaisseaux sanguins, des cellules qui le constituent. Cellules irrégulières, plus ou moins polyédriques, à noyau sphéri-

[1] Mme Mulon. Essai critique sur les rôles physiologiques du C. J. Thèse médecine, Paris, 1917, p. 21.

que, qui contiennent dans leur protoplasma de petites enclaves graisseuses, mais pas de lutéine. « On ne connaît pas le rôle de la glande interstitielle. La question ne se pose d'ailleurs que pour certaines espèces animales, comme chéiroptères, insectivores, rongeurs. Chez la plupart des autres mammifères, et chez la femme, l'ovaire est dépourvu de cellules interstitielle » [1].

C'est sans doute à l'absence des corps jaunes qu'il faut rapporter les troubles trophiques connus depuis longtemps, consécutifs à la castration chez la femme, tels qu'asthénie, céphalées, sueurs, rougeurs, vertiges. La ménopause amène souvent des phénomènes morbides analogues.

---

[1] Gley. Physiologie (Baillière), 1921, t. 2, p. 738-9.

CHAPITRE II

NATURE LIPOIDIENNE DE SUBSTANCES ACTIVES SECRETEES PAR LES OVAIRES ET LES CORPS JAUNES DES MAMMIFERES

Bouin et Ancel [1], les premiers, montrent « la nature lipoïdienne » d'une substance active, sécrétée par le corps jaune des mammifères.

Ils préparent un extrait en broyant avec du sable des corps jaunes choisis pendant leur période de développement et d'état. La pulpe obtenue est mise à macérer dans 50 fois son poids de solution physiologique vingt-quatre heures à la glacière.

L'injection intraveineuse, chez le lapin, d'un demi-centimètre cube du liquide amène la mort d'un animal de 1.500 gr. Injecté à faible dose, cet extrait provoque la chute de la pression sanguine.

Par contre l'injection d'un centimètre cube d'un extrait préparé de la même façon, avec des ovaires privés de corps jaunes, ne produit qu'une légère accélération respiratoire.

L'extrait de corps jaune est trouble ; par filtration Bouin et Ancel obtiennent un liquide clair inactif et un résidu dont l'émulsion dans le sérum physiologique possède toutes

[1] Bouin et Ancel. C. R. Ac. Sc., 1910, t. 151, p. 1391.

les propriétés de l'extrait primitif. La substance active est insoluble dans l'eau, dans le sérum physiologique. Elle est insoluble dans NaCl à 10 0/0, le Co^3Na^2 à 1 et 5 0/0.

Insoluble également dans l'eau légèrement acidulée, dans l'alcool, à divers degrés de concentration (neutre ou acidulé).

Elle ne possède aucun caractère de solubilité des ferments des protéides et des bases organiques.

Par contre, elle est soluble dans l'éther, l'alcool absolu, l'acétone, le chloroforme, la benzine, le sulfure de carbone, l'éther de pétrole.

Cette substance active est thermostabile; à sec elle résiste à une température prolongée de 70 à 80°, mais chauffée en milieu humide, elle perd ses propriétés, elle les perd instantanément en présence des alcalis libres, même très dilués, lentement en présence des acides dilués.

En 1912, Iscovesco entreprend l'étude des différents lipoïdes constitutifs des organes [1].

L'organe frais, finement pulpé, est jeté dans trois fois son volume d'alcool à 95°. Après une macération de deux heures, on filtre. Le liquide est mis de côté, afin d'en extraire les lipoïdes dont il s'est chargé et qui constituent le groupe 1.

La pulpe organique, séchée à une température inférieure à 40° et pulvérisée après chaque traitement, est épuisée successivement pendant 40 heures (environ 80 passages) au soxhlet par les solvants suivants :

a) Ether sulfurique qui donne les lipoïdes du Groupe II
b) Acétone — — Groupe III
c) Chloroforme — — Groupe IV
d) Alcool — — Groupe V

[1] Iscovesco. C. R. Soc. Biologie, 1912, t. 1, p. 859.

Tous ces extraits étant préparés, on procède au morcellement et à la purification. Soit le groupe II. L'extrait éthéré est repris par l'éther de pétrole, on a une partie soluble B et une insoluble A. La portion soluble B est desséchée et reprise à l'éther ordinaire. Il y a encore une partie insoluble qu'on sépare par centrifugation. La solution limpide, qui surnage, est versée dans environ dix fois son volume d'acétone pur, exempt d'acide, puis laissée à la glacière vingt-quatre heures. Au bout de ce temps, on trouve au fond du vase un précipité abondant qui est recueilli sur un filtre (portion C).

La solution acétonique est concentrée et mise à la glacière. Par refroidissement, on a une masse blanc jaunâtre (D).

Le reste de la solution acétonique qui traverse le filtre est ensuite complètement desséché. Le précipité est repris à l'alcool bouillant. Tout se dissout. On laisse refroidir et au bout de vingt-quatre heures on a une partie précipitée : E, et une qui reste dissoute : F.

Chacune des substances ainsi isolées est reprise successivement à l'éther de pétrole, à l'éther ordinaire, à l'alcool froid et enfin à l'alcool bouillant. On obtient ainsi les fractions a, b, c, d de l'amas correspondant.

On procède de même pour les groupes III, IV, V.

Cette méthode de fractionnement, appliquée à l'ovaire de truie fournit à Iscovesco les résultats suivants (pour 1.000 gr. de produit) :

Groupe I soluble dans l'alcool de coagulation	12 gr.
Groupe II soluble dans l'éther	72 gr.
Groupe III soluble dans l'acétane	16 gr.
Groupe IV soluble dans le chloroforme	4 gr.
Groupe V soluble dans l'alcool	90 gr.

[1] Iscovesco. C. R. Soc. Biologie, 1912, t. II, p. 16 et 104.
C. R. Soc. Biologie, 1913. t. II, p. 393.

Ces lipoïdes, débarrassés des matières albuminoïdes entraînées, et purifiés, jouissent de propriétés physiologiques différentes.

Injectés à des animaux: lapin, chien, cobaye, en émulsion aqueuse, par voie hypodermique ou intrapéritonéale, ils ne provoquent aucun trouble, ni immédiat, ni tardif.

Le lipoïde II Fa [fraction soluble dans l'éther de pétrole (*a*), de l'amas lipoïdique soluble dans l'alcool bouillant (*F*), du groupe éthérosoluble (*II*)], est doué de propriétés remarquables.

Il se présente sous l'aspect d'une masse de consistance cireuse jaune paille. Non toxique chez le cobaye, le chien, le lapin, il possède des propriétés stimulantes nettes sur l'appareil utéro-ovarien et particulièrement sur l'utérus, dont il provoque la congestion et une augmentation de volume et de poids qui peut doubler ou tripler.

Par de nouvelles recherches, Iscovesco montre qu'à côté du lipoïde II Fa le lipoïde VDc est actif.

Injecté pendant deux à trois mois, il stimule presque exclusivement l'utérus et les ovaires, dont le poids peut augmenter du simple au quadruple.

Ce lipoïde, toujours le même, quelque soit l'animal dont il provienne, régularise et accélère la croissance chez les sujets jeunes.

Expérimenté sur des lapins et des cobayes, ce lipoïde agirait, pour Nafilyan[1], par:

1° Action excitatrice sur la sécrétion interne;

2° Action irritative sur les centres médullaires nutritifs;

---

[1] Nafilyan. Thèse médecine, Paris, 1913, p. 63.

3° Epuisement nerveux de ces mêmes centres, à la suite d'une action irritative trop violente ou trop prolongée.

Employé en thérapeutique humaine, il aurait fourni de bons résultats à Nafilyan.

Lipoides du cors jaune. — Cent grammes de poudre de corps jaune de truie donnent, à Iscovesco [1] :

Groupe I	3 gr. 40
Groupe II	18 gr. 70
Groupe III	2 gr. 55
Groupe IV	1 gr. 30
Groupe V	12 gr. 00

Le lipoïde VDa n'est point toxique et est doué d'un rôle dans l'involution postpuerpérale de l'utérus, involution qu'il hâte. De plus, il favorise la lactation.

Subtance active d'Hermann. — Hermann extrait également du corps jaune un lipoïde actif. Des corps jaunes sont broyés et séchés à 37° dans le vide.

La poudre obtenue est épuisée à l'éther (quarante heures au Soxhlet). Après distillation de l'éther, le résidu est repris par quatre volumes d'acétone. Il se forme un précipité de phosphatides ne possédant d'activité que dans la mesure où il est impur. La solution acétonique est concentrée et refroidie. On sépare ainsi une partie de la cholestérine.

Après filtration on concentre de nouveau. Le résidu est repris par l'alcool, on filtre, concentre et reprend par l'alcool amylique.

Le filtrat est concentré. Par refroidissement, il se sépare

[1] Iscovesco. C. R. Soc. Biologie, 1912, t. II, p. 189.

une huile que l'on décante. Le résidu concentré à consistance de sirop est épuisé par l'alcool absolu.

Les extraits alcooliques sont distillés dans le vide. On obtient trois fractions :

1° Une première distillant à 177°, inactive, est constituée par des éthers de la cholestérine (éther palmitique) ;

2° Une fraction volatile à 193°, sirupeuse, traitée par l'alcool à 95°, donne :

a) un éther de la cholestérine peu soluble ;

b) une partie soluble, qui, distillée à nouveau dans le vide, représente la partie active ;

3° Une dernière fraction inactive, distille à 230°.

La substance active est une huile jaune-brillant, donnant la réaction de la cholestérine, elle brunit à la lumière. Elle est soluble dans l'alcool, l'éther, la benzine, l'éther de pétrole.

Elle est constituée de : C-O-H.

C. 81,33 - 81,62 0/0
H. 11,32 - 11,42 0/0

CHAPITRE III

OPOTHERAPIE OVARIENNE

Brown-Sequard ne reconnaît au « suc ovarique » que des propriétés dynamogènes, moindres que celles du testicule.

Le premier, Jayle [1] a recours à la médication ovarienne (1895), dans les troubles consécutifs à la castration ovarienne et utéro ovarienne. « Sans entrer dans le détail de ces phénomènes post-opératoires, je dirai, que les plus communes sont les bouffées de chaleur, les céphalées, les cauchemars, l'insomnie, la perte de mémoire, l'asthénie neuro-musculaire... ». « On peut émettre l'hypothèse que les phénomènes morbides post-opératoires sont dus, en totalité ou en partie, à l'absence d'une sécrétion interne. Cette idée conduit à cette déduction thérapeutique, que l'ingestion d'ovaires ou d'extraits d'ovaires, peut amener la cessation des troubles. La difficulté qu'il y a à se procurer des ovaires frais et la répugnance instinctive que m'ont manifestée toutes les malades auxquelles j'ai proposé de prendre des ovaires crus, m'ont déterminé à avoir recours, tout d'abord, à l'emploi soit d'un liquide ovari-

[1] Jayle. Opothérapie ovarienne. Presse Médicale, 1896, p. 221.

que préparé selon la méthode de Brown-Sequard, soit d'un extrait sec pulvérulent d'ovaires ».

« L'opothérapie ovarienne chez les femmes castrées a pour effet de faire disparaître transitoirement ou définitivement quelques-uns des phénomènes provoqués par la castration.

» L'opothérapie ovarienne est à essayer dans nombre de cas d'aménorrhée et de dysménorrhée, dues à des lésions de l'ovaire et contre lesquelles la castration est souvent pratiquée ».

Landau (1896) [1] administre de la substance ovarienne à des femmes aménorrhéiques ou arrivées à la ménopause et constate la disparition des accidents dus à l'insuffisance ovarienne.

Spillmann, au IIIe Congrès de Médecine (Nancy 1896), Etienne et Demange, au Congrès de Médecine interne de Montpellier (1898), considèrent la chlorose comme due à l'insuffisance de la sécrétion interne de l'ovaire. Ils ont recours, pour combattre cette chloro-anémie, à l'opothérapie ovarienne.

Dalché [2], dans la tétanie de la ménopause, recommande l'opothérapie ovarienne qui apporte, sinon la guérison, au moins l'amélioration et l'espacement des crises douloureuses.

Levi [3] décrit une migraine ovarienne combattue par la médication ovarienne.

Au début, on a recours aux extraits injectables préparés

---

[1] Laudon. Cité par Carnot.

[2] Dalché. Tétanie de la ménopause. Opothérapie ovarienne. *Journal de Pharmacie et de Chimie,* 1909, p. 80.

[3] Lévi. *Bul. Sciences Pharmacologiques,* 1912, p. 382.

selon la méthode de Brown-Sequard. Sous le nom d'Ovairine [1], on emploie une macération de : une partie d'organe dans dix de glycérine.

On a recours, également, aux greffes ovariennes.

Morris [2], le premier (1895), puis Glass, Mauclaire, transplantent des ovaires sains, soit dans le fond de l'utérus, soit dans le ligament large, soit à l'intérieur du pavillon de la trompe.

Mais la forme qui a prévalu et est à peu près uniquement employée aujourd'hui est la poudre d'ovaires ou ovarine.

Les organes, soigneusement débarrassés de toute annexe, sont broyés au moulin. La pulpe obtenue est étalée en une mince couche sur des cuvettes de porcelaine et séchée dans le vide à une température de 40°. Le séchage est complet au bout de six heures. La pulpe sèche est alors pulvérisée et tamisée.

L'industrie utilise les ovaires de génisse, de brebis, de truie et de jument.

---

[1] Gillet. Formulaire des médications nouvelles, 1896, p. 173.

[2] Morris Glas, Mauclaire in Carnot. Opothérapie (Baillière), p. 325.

SECONDE PARTIE

COMPOSITION CHIMIQUE DES POUDRES D'OVAIRES

Lepinois [1], dans sa thèse, donne comme composition chimique de l'ovaire de brebis les chiffres suivants, pour 100 gr. de glande :

	A l'état frais	Poudre sèche
Azote total	2 gr. 68	14 gr. 42
Azote des albuminoïdes	2 gr. 06	11 gr. 09
Azote extractif	0 gr. 62	3 gr. 33
Eau	81 gr. 43	»»
Extrait sec à 105°	18 gr. 57	100 gr.
Sels minéraux	1 gr. 04	5 gr. 60
Matières organiques	17 gr. 53	94 gr. 40
Substances albuminoïdes totales	13 gr. 20	71 gr. 08
Substances albuminoïdes solubles dans l'eau	4 gr. 96	26 gr. 70
Extrait éthéré	1 gr. 26	6 gr. 78
Matières extractives	2 gr. 47	13 gr. 30
Urée	0 gr. 025	0 gr. 134

Méthode analytique de Lepinois. — L'organe pulpé et séché est traité par de l'éther anhydre et pur : on a un extrait éthéré. La portion insoluble, pesée et incinérée, donne les cendres.

Une seconde partie de la poudre d'organe est traitée par vingt fois son poids d'eau distillée froide : on évapore

[1] Lepinois. Thèse pharmacie, Paris, 1899, p. 37, p., 64.

au bain-marie, puis à 105° une partie du soluté filtré pour obtenir un extrait sec, que l'on reprend par l'alcool à 80°. L'alcool est évaporé à sec; on obtient ainsi un extrait alcoolique qui, par différence avec le premier extrait, constitue ce que l'on peut appeler l'extrait aqueux proprement dit.

Pour obtenir le poids de toutes les matières albuminoïdes contenues dans un organe, Lepinois fait deux dosages d'azote, l'un total sur la pulpe d'organe, l'autre sur cette pulpe, épuisée préalablement à l'eau froide. Le second dosage permet d'évaluer l'azote des albumines qui, multiplié par 6,41, donne le poids de celles-ci.

Les eaux de lavage sont recueillies et exactement mesurées; on y dose, par simple coagulation, en présence de l'acide trichloracétique, les matières albuminoïdes entraînées avec l'extractif. Ce poids doit être ajouté au précédent pour avoir des albumines totales.

Les matières extractives [créatine, sarcine, xanthine, acide urique, tyrosine-leucine] ont été évaluées, en diminuant de l'ensemble des matières organiques la somme des albumines, des graisses et de l'urée.

L'urée est dosée en épuisant par l'eau la pulpe d'organe. Après filtration, la solution aqueuse est additionnée de quatre fois son volume d'alcool à 90°.

Après concentration et défécation avec sous-acétate de plomb, on dose l'urée à l'hypobromite de soude.

Nous avons étudié: 1° le pourcentage des cendres insolubles et des cendres solubles; 2° la teneur des poudres d'ovaires en manganèse et en zinc; 3° la richesse de ces poudres en acides gras.

CHAPITRE PREMIER

COMPOSITION SALINE DES POUDRES D'OVAIRES

Dans un travail présenté à la Société de Pharmacie de Paris, MM. Fabre et Pénau [1] ont montré tout l'intérêt que peut présenter l'étude quantitative des cendres des poudres opothérapiques. La méthode préconisée par ces deux auteurs permet de déceler facilement l'addition frauduleuse de substances inertes (talc, carbonate de chaux), ainsi que le salage des organes [2].

Suivant la technique de ces auteurs, nous avons dosé dans nos échantillons types: l'humidité, les cendres solubles et les cendres insolubles. Avec les cendres, nous avons

---

[1] Fabre et Pénau. Examens chimiques généraux des poudres opothérapiques. *J. de Pharmacie et Chimie,* 1923, p. 281.

[2] Le salage des organes pratiqué par les abatteurs leur permet d'emmagasiner et de conserver un certain temps les organes avant de les expédier aux usines de produits opothérapiques. Le salage des organes rend leur dessication difficile ainsi que la conservation des poudres par suite de leur hydroscopicité plus grande. Nous avons eu entre les mains un lot d'ovaires de truies ainsi traités. A l'analyse, il nous révéla les chiffres suivants:

Humidité	NaCl.	C. S.	C. I.
8 gr. 15 0/0	13,08	16,61	1,29

en grammes pour cent de produit séché à 105.

évalué l'alcalinité, et dans la partie soluble nous avons dosé le chlorure de sodium.

Humidité. — Les poudres opothérapiques étant très hygroscopiques, il était indispensable de déterminer le coefficient d'humidité de nos échantillons.

Cette teneur en eau fut déterminée sur une prise d'essai de 0 gr. 50, abandonnée à l'étuve à 105°, jusqu'à poids constant.

Cendres. — Dans un creuset de porcelaine, on introduit 5 gr. de poudre (séchée à 105°). Après une première calcination de trente minutes, à la lampe à alcool, la masse charbonneuse est traitée par quelques centimètres cubes d'eau; puis soigneusement écrasée. Le creuset est porté au bain-marie puis, après départ de l'eau, reporté sur la flamme de la lampe à alcool. Cette seconde calcination est maintenue de même pendant trente minutes.

La masse charbonneuse est reprise par l'eau distillée bouillante. Après décantation, le liquide d'épuisement est passé au Bücher, sur un filtre sans cendres.

L'épuisement est continué jusqu'à ce que les eaux de lavage ne précipitent plus par NO^3Ag.

Le charbon est alors entraîné sur le filtre avec les dernières eaux de lavage. Le filtre et le charbon qu'il contient sont mis à sécher à l'étuve à 100°.

Cendres solubles. — Le filtrat et les eaux de lavage sont évaporés jusqu'à siccité au bain-marie, dans une capsule tarée. Les dernières traces d'humidité sont éliminées à l'étuve à 150°.

L'augmentation de poids constatée donne la quantité de cendres solubles renfermée dans la prise d'essai.

Chlorures. — Le résidu salin est alors repris par environ 100 cc^3 d'eau distillée, aiguisée de No^3H, employés en plusieurs fois.

A cette solution, on ajoute 50 cc^3 de solution No^3Ag. N/10. L'argent en excès est titré à l'aide d'une solution de sulfocyanure de potassium décinormale, en présence d'alun de fer, suivant la méthode de Charpentier Volhardt.

Si N est le nombre de cc^3 employés, $[50—N]\times0{,}00585$ donne la quantité de NaCl contenu dans la prise d'essai.

Cendres insolubles. — Le filtre provenant du lavage des cendres avec le charbon qu'il renferme est placé dans une capsule, à calcination tarée. L'ensemble, après séchage à l'étuve, est calciné au moufle, jusqu'à l'obtention de cendres blanches.

L'augmentation de poids de la capsule donne le poids des cendres insolubles de la prise d'essai.

Sur les cendres insolubles, on pratique un dosage d'alcalinité; à cet effet, le résidu est traité par 30 cc^3 SO^4H^2 N/10.

La capsule est portée au bain-marie quelques minutes, puis la liqueur est passée sur un filtre lavé, sans plis. L'excès d'acidité est titré dans le filtrat à l'aide d'une solution décinormale de Na OH, en présence de phénolphtaléine.

$$[30—N]\times0{,}0053$$

donne en Co^3Na^2 l'alcalinité des cendres insolubles de la prise d'essai.

Résultats en gr. 0/0 de produit séché à 105

	Humidité	C. S.	NaCl	C. l.	Alcalinité en Co^3Na^2
Génisse	8 gr. 15	4,20	1,02	2,66	0,33
		4,14	1,02	2,64	
Truie	7 gr. 65	4,04	1,03	5,98	0,41
		4,08	1,03	5,98	
Jument	7 gr. 85	3,88	1,12	4,5	0,50
		3,92	1,12	4,46	
Brebis	7 gr. 40	3,88	1,48	8,32	0,44
		3,96	1,48	8,32	

A l'examen de ce tableau on est immédiatement frappé par ce fait, que la composition des cendres solubles est à peu près constante, quelle que soit l'origine de la poudre d'ovaire, mais que la teneur en cendres insolubles est très variable, les ovaires de génisse en renfermant 2,66 p. 100 et ceux de brebis 8,32.

Faut-il voir dans cette différence une question d'espèce animale, ou bien cette différence provient-elle du fait que les ovaires de brebis se trouvaient mélangés d'organes vieux, riches en tissus sclérosés?

CHAPITRE II

LE ZINC ET LE MANGANESE DANS LES POUDRES D'OVAIRES

Sur les conseils de notre maître, M. le professeur Astruc, nous avons recherché et dosé dans les poudres d'ovaires deux éléments catalytiques importants :

A. Le Manganèse
B. Le Zinc

A. Le Manganèse

Le manganèse se trouve répandu dans le règne animal et le règne végétal. Les recherches de G. Bertrand et Medigreanu [1] montrent, en effet, que la présence du manganèse est normale dans la série animale. MM. Jadin et Astruc [2] ayant fait porter leurs analyses sur près de deux cents végétaux, appartenant à de nombreuses familles, ont montré que la présence du manganèse est constante chez les plantes. M. Gabriel Bertrand et Mme Rosenblatt ont, depuis lors, corroboré ces résultats.

---

[1] G. Bertrand et Medigreanu. Recherches sur la présence du Manganèse dans la série animale. *Bull. Soc. Chimie.*

[2] Jadin et Astruc. La répartition du Manganèse dans le règne végétal. *J. Pharmacie et Chimie,* 1913, t. vii, p. 155.

Pour la recherche et le dosage du mangasène dans les ovarines, nous avons eu recours à la méthode de G. Bertrand [1], au persulfate de potassium et à l'argent.

En milieu azotique, il se produit en effet :

$$2[No^3]^2Mn + 5\,S^2O^8K^2 + 4\,H^2O = 10So^4KH + 4No^3H + 2\,MnO^4H$$

Cette réaction est due à la formation intermédiaire de péroxyde d'argent.

$$2\,No^3Ag + S^2O^8K^2 + 2\,H^2O = Ag^2O^2 + {}^2So^4KH + 2\,No^3H$$

L'acide permanganique formé colore la solution en rose plus ou moins intense, ce qui permet, en comparant la teinte obtenue avec des solutions étalons, d'effectuer un dosage colorimétrique.

Dosage. — On détruit la matière organique par incinération au rouge sombre. On laisse refroidir. Le manganèse se trouve à l'état de sesquioxyde. On traite alors les cendres par l'acide chlorhydrique concentré, puis on chauffe au bain-marie. Le sesquioxyde entre en solution. Lorsqu'il n'y a plus traces de sesquioxyde le liquide chlorhydrique devient brun-verdâtre puis se décolore en dégageant du chlore. Après quelques instants, sans qu'il soit nécessaire d'évaporer à sec, on ajoute : So^4H^2 pour décomposer les chlorures, puis on évapore et calcine de nouveau sans dépasser le rouge sombre.

Les sulfates étant moins solubles que les chlorures, les dernières traces de charbon disparaissent alors facilement.

---

[1] Bertrand. Recherche et dosage de petites quantités de Manganèse en particulier dans les substances organiques. *Bul. Scienc. Pharmacologiques,* 1911, p. 195.

Si l'on craint avoir trop chauffé et qu'une partie du manganèse soit repassée à l'état de sesquioxyde, on humecte le résidu avec HCl concentré, on chauffe une à deux minutes puis on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique pour chasser l'acide volatil. On évapore au bain-marie. Puis on chauffe à feu nu jusqu'à apparition de fumées blanches.

Les cendres sulfatées sont dissoutes dans l'acide azotique au 1/3. On ajoute, alors:

V gouttes No^3Ag à 1/10

et environ 0 gr. 30 de persulfate de potassium.

On chauffe doucement. Un léger trouble jaunâtre apparaît le plus souvent au début du chauffage. Il fait place à une coloration rose s'il n'y a que des traces de manganèse, à une coloration violette s'il y a davantage de métal.

On porte le liquide à l'ébullition, de manière à décomposer l'excès de persulfate, ce qui s'apprécie facilement à l'effervescence. S'il persistait du persulfate, la coloration de l'acide permanganique s'additionnerait de jaune sale, par suite de l'action oxydante du persulfate sur le sel d'argent.

Pour les dosages, on prépare d'abord une solution mère renfermant 4 gr. 054 de $SO^4Mn—4\ H^2O$, soit un milligramme de moins par centimètre cube. Avec cette solution mère on prépare deux dilutions A au 1/10e et B au 1/100e.

En traitant des volumes convenables de l'une ou de l'autre de ces dilutions par le persulfate et le nitrate d'argent en présence de No^3H, on établit une série de tubes de comparaison, avec lesquels il est facile de déterminer le manganèse contenu dans une cendre.

Les cendres de 5 grammes de poudre d'ovaires, traitées par le persulfate de potasse et le nitrate d'argent, nous donnaient une coloration correspondant aux teintes obtenues en traitant les quantités suivantes de la dilution B :

[1 cc. = 0 milligr. 01 de manganèse]

Ovarines	Nombre de cc³ de la dilution au 1/100e 1cc. 0mm,01 de Mn.	Résultat en milligr. Mn. p. 5 gr.	Mn. p. 0/0
Génisse	2 cc. 25	0,0225	0,45
Truie	2 cc. 25	0,0225	0,45
Brebis	2 cc. 1	0,021	0,42
Jument	2 cc.	0,02	0,40

B. Le Zinc

Le zinc, d'une importance capitale dans l'alimentation des animaux[1], se rencontre en proportions notables et d'une façon constante dans les tissus.

G. Bertrand et Vladesco ayant entrepris l'étude de la teneur en zinc des tissus animaux, arrivent à conclure que le zinc est un élément d'une grande mobilité à travers l'organisme. Cette teneur en zinc ne varie pas seulement d'un organe ou d'un tissu à un autre, mais elle varie encore dans le même organe, suivant l'individu. L'influence de l'âge se fait également sentir. « Le zinc joue donc un rôle important et très général dans l'organisme des vertèbres. Il doit intervenir dans la fonction de reproduction, et, si

[1] G. Bertrand et Benzon. Sur l'importance du Zinc dans l'alimentation des animaux. Expériences sur la souris. *C. R. A. S.*, juillet 1922, t. 175, p. 289.

l'on tient compte de sa mobilité, sans doute aussi dans les processus de régulation et de sécrétion interne. »[1].

Dosage. — Le dosage du zinc comporte deux phases :

1° Destruction de la matière organique ;

2° Dosage proprement dit.

Destruction de la matière organique. — Nous avons adopté la méthode préconisée par G. Bertrand et Vladesco[2].

Cinq grammes de poudre d'ovaire sont introduits sans pertes dans un matras à long col de 500 cc[3]. On chauffe jusqu'à ébullition, avec 50 gr. de SO^4H^2 pur, dans lesquels on a laissé couler peu à peu 50 gr. de No^3H.

Lorsque la destruction des substances organiques est complète, la solution acide est évaporée à sec dans une capsule de porcelaine. Le résidu est arrosé d'HCl concentré, on évapore au bain-marie. On reprend par H^2O acidulée à l'acide chlorhydrique.

Dans cette solution on dose Zn par la méthode au zincate de chaux[3].

Dosage. — La solution chlorhydrique est traitée par H^2S. Le liquide filtré est porté à l'ébullition pour chasser l'excès d'H^2S. Puis on le verse dans l'ammoniaque pure et en quantité telle que le mélange final renferme 20 à 25 0/0 de la solution ammoniacale saturée.

---

[1] G. Bertrand et Vladesco. Sur l'intervention probable du Zinc dans les phénomènes de fécondation chez les vertébrés. *B. S. Chimie,* août 1922 p. 796-99.

[2] G. Bertrand et Vladesco. Recherches sur la répartition du Zinc dans l'organisme du cheval. *Bul. Soc. Chimie,* 1921 t. 29, p. 53.

[3] G. Bertrand et Javillier. *Bul. Soc. Chimie,* 1908, t. III, p. 115, 117.

On ajoute H^2O^2 pour péroxyder le Mn et assurer sa précipitation. On filtre, on redissout le précipité de Mn dans l'acide chlorhydrique concentré et on recommence la précipitation par l'ammoniaque et l'eau oxygénée. Les liqueurs ammoniacales réunies renferment la totalité du zinc.

On les porte à l'ébullition et on introduit peu à peu une quantité de lait de chaux suffisante pour libérer totalement l'ammoniaque combinée et pour précipiter le zinc à l'état de zincate.

Quand tout NH^3 est parti, on lave le précipité adhérent aux parois et celui qui est contenu dans le filtre avec de l'acide chlorhydrique. On évapore au bain-marie dans une capsule de platine pour chasser l'excès d'acide.

On redissout les chlorures de zinc et de calcium dans une solution acétique d'acétate d'ammoniaque à 5 0/0.

On sature d'H^2S. Après vingt-quatre heures de repos, on recueille le sulfure de zinc sur un filtre, on lave à l'eau saturée d'H^2S et acidifiée par l'acide acétique.

Le précipité de sulfure de zinc est alors dissout dans SO^4H^2, au 1/20e. La solution est évaporée au bain-marie puis au chalumeau.

On pèse le sulfate anhydre, dont le poids, multiplié par 0,4025, donne la quantité de zinc dans la substance analysée.

Voici exposé en un tableau les résultats que nous avons obtenus avec les poudres d'ovaires.

	Résultats en milligrammes		
Ovarines	SO^4Zn anhydre pesé	Zinc pour 5 gr.	Zinc 0/0
Génisse	3,8	1,53	30,6
Truie	3,5	1,41	28,3
Brebis	3,1	1,25	25,1
Jument	3,2	1,29	25,9

CHAPITRE III

GENERALITES SUR LES LIPOIDES TENEUR DES POUDRES D'OVAIRES EN LIPOIDES INSAPONIFIABLES ET EN ACIDES GRAS

A. Lipoides

C'est à la suite des études d'Overton, sur la perméabilité des couches bordantes des cellules à l'égard des colorants vitaux que l'on voit apparaître le terme de lipoïde.

Sous ce nom, on désigne généralement toutes les substances que l'on peut extraire des humeurs et des tissus (animaux et végétaux) par les solvants habituels des graisses : éther, chloroforme, benzène, etc.

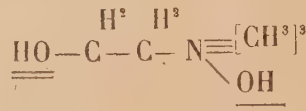
C'est donc une définition purement physique qui ne correspond pas à un groupe chimique homogène, groupe important, cependant, par ses propriétés physiologiques.

On peut classer les lipoïdes en lipoïdes phosphorés et lipoïdes non phosphorés, chaque classe se divisant à son tour en lipoïdes azotés et lipoïdes non azotés.

Lipoïdes phosphorés azotés. — Phosphatides.

Le type en est la lécithine, combinaison de la choline avec l'acide distearo-glycero-phosphorique. L'union de la choline avec l'acide phosphorique, se faisant par l'oxy-

hydrile alcoolique et non par l'oxydrile basique, lié à l'azote.



La composition des lécithines peut varier à la fois avec la constitution de l'acide glycérophosphorique qu'elles contiennent et selon la nature des restes gras [stéarique, palmitique, oléïque].

Les lécithines du jaune d'œuf et du cerveau contiennent à la fois les deux acides α et β glycérophosphoriques.

A côté des lécithines, il existe toute une série de phosphatides caractérisés par le rapport de l'azote au phosphore.

La lécithine, la céphaline, la myéline sont des monoaminomonophosphatides où $\frac{N}{P} = \frac{1}{1}$

La cruorine du cœur de bœuf est un monoaminodiphosphatide $\frac{N}{P} = \frac{1}{2}$

La sphingomyélite: [diaminomonophosphatide du cerveau $\frac{N}{P}$: $\frac{2}{1}$]ne contient pas d'acide glycérophosphorique et renferme, à côté de la choline une autre base: la sphingosine dialcoolaminé, à liaison éthénique.

Les phosphatides sont précipitables de leurs solutions au moyen des chlorures de cadmium, platine, plomb à

l'état de combinaison lipoïdo métallique. Mais cette précipitation n'est pas quantitative [Strecker].

Sulfatides. — Il existe dans le cerveau une série de lipoïdes où le soufre prend la place du phosphore.

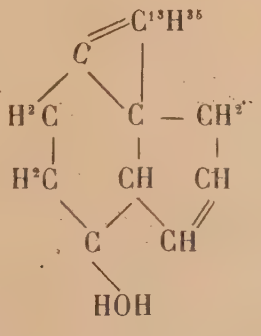
Lipoïdes phosphorés non azotés. — A ce groupe appartient la phytine, substance de réserve chez les céréales. $[C^2H^8P^2O^9]^3$. Par hydrolyse, elle donne de l'acide phosphorique et de l'inosite.

Lipoïdes non phosphorés azotés: Cérébrosides. — Famille de corps dont le dédoublement fournit du galactose des acides gras et des bases azotées. Le représentant le mieux connu est la cérébrine.

Les protagons seraient des combinaisons de phosphatides et de cérébrosides.

Lipoïdes non phosphorés non azotés: Cholestérines. — Corps à fonction alcool, souvent éthérifiée et dont le type est la cholestérine (d'origine animale), voisine, sinon identique aux phytostérines végétales.

La cholestérine isolée d'abord de certains calculs biliaires a été rencontrée depuis dans tous les tissus et liquides de l'organisme. Au point de vue chimique, la cholestérine est un terpène à fonction alcool, auquel Widaus et Dalmer [1] attribuent la formule:



[1] Windaus et Dalmer. Beritchte der deutschen chemischen Geselschaft, t. LII, p. 162. In *Bul. Soc. Chimie,* 1919, p. 345.

Elle cristallise en tablettes nacrées, échancrées, fusibles à 145°. Corps extrêmement avide d'eau, elle forme avec la digitonine un complexe insoluble dans l'alcool.

Alors que les graisses vraies sont toujours des substances ternaires, les lipoïdes sont parfois quaternaires [C. H. ON.] et le plus souvent quinternaires [C.H.O.N.P.].

Malgré les différences chimiques, les lipoïdes n'en constituent pas moins un groupe très important par ses propriétés physiologiques.

Les lipoïdes sont des constituants de la cellule.

La liposolubilité joue un rôle important dans la perméabilité cellulaire : perméabilité aux colorants vitaux, perméabilité aux anesthésiques. Les phosphatides joueraient un rôle dans l'oxydation des graisses. Les acides gras n'entreraient dans la molécule des phosphatides que pour être oxydés. La lécithine serait « une machine à brûler ces acides ». (Lœw).

Les lipoïdes interviennent encore, soit comme antihémolytiques et antitoxiques, soit, au contraire, comme hémolysants et toxiques.

La cholestérine est, par dessus tout, un antitoxique et un antihémolytique. Action antihémolytique se faisant sentir sur les agents les plus divers de l'hémolyse : saponine, ricine, elle aurait une action neutralisante sur les venins de serpents.

B. Dosage des acides gras et de l'insaponifiable

En admettant, avec Bouin et Ancel, Iscovesco, Hermann, que le principe actif des poudres d'ovaires est de

nature lipoïdique, il était intéressant de chercher quelle était la teneur de ces poudres en acides gras.

Pour ce, nous avons suivi la technique de Lemeland, en opérant sur deux grammes de poudre.

1° Deux grammes de poudre d'ovaire sont mis à macérer dans 100 cc. d'alcool à 95° Au bout de vingt-quatre heures, on filtre dans la cartouche d'un extracteur de Kumagawa et Suto. On extrait, pendant huit heures, avec 100 cc. de nouvel alcool, à l'aide de l'appareil de Kumagawa.

2° On évapore à sec les alcools d'extraction et de déshydratation réunis en s'aidant du vide. Pour cela, il est nécessaire, à cause de la mousse abondante qui se produit, d'employer un ballon à fond rond, de grande capacité (au moins 500 cc).

Au moment où il ne reste plus dans le ballon que 4 à 5 centimètres cubes d'un alcool très étendu, on interrompt l'évaporation et on introduit dans le ballon 10 cc d'alcool absolu, en rinçant le col et les parois. On refait le vide et à ce moment, seulement, on plonge le ballon dans l'eau bouillante, en agitant constamment, en deux ou trois minutes on obtient un résidu très sec et réparti en une mince couche sur les parois du ballon.

3° *Saponification.* — On saponifie le résidu en chauffant à reflux pendant deux heures, avec 25 cc. de potasse deux fois normale, dans l'alcool à 95°.

---

[1] Lemeland. *Bulletin Soc., Ch. Biologique,* février 1923, t. v, p. 111, et *Bul. Soc. Ch. Biol.,* mai 1921, t. iii, p. 163.

On introduit ensuite dans le ballon où a eu lieu la saponification :

40 cc. HCl normal
26 cc. 2 alcool à 95°
8 cc. 2 H^2O

On a ainsi un volume total de 100 cc. d'alcool à 50°, d'une alcalinité voisine de l'alcalinité décinormale.

Le milieu ainsi réalisé est celui préconisé par Hônig et Spitz, pour la séparation des acides gras d'avec l'insaponifiable total.

Comme l'adjonction brusque d'HCl normal libère parfois des acides gras solides qui se recombinent difficilement à froid avec la potasse, on chauffe à nouveau le liquide vingt minutes à reflux, pour assurer la salification de ces acides gras.

On laisse refroidir.

Séparation des acides gras et de l'insaponifiable. — Le liquide ainsi obtenu est prêt pour la séparation quantitative de l'insaponifiable total. On fait passer le liquide quantitativement dans une ampoule à décantation de 500 centimètres cubes, en se servant, pour rincer le ballon, d'une solution de potasse décinormale dans l'alcool à 50°.

Le liquide est extrait à quatre reprises par de l'éther de pétrole (point d'ébullition 60°), dont on emploie les quantités suivantes : 100 cc., 50 cc., 40 cc., 40 cc.

L'insaponifiable total passe dans l'éther de pétrole et les savons restent dans la phase hydroalcoolique. A chaque décantation on recueille l'éther de pétrole dans une autre ampoule. L'ensemble de ces extraits est lavé avec

50 cc. d'eau distillée qui sont réunis à la phase hydroalcoolique, pour éviter toute perte d'acides gras.

Insaponifiable total. — L'éther de pétrole ayant servi à la séparation de l'insaponifiable total d'avec les acides gras est évaporé, dans un ballon, à sec, en s'aidant du vide.

Le résidu est redissout dans 10 cc. d'alcool absolu contenant 1 cc de soude alcoolique décinormale, puis transvasé quantitativement, en rinçant le ballon à l'alcool absolu, dans un cristallisoir à bec. On évapore l'alcool au bain-marie. On sèche une heure à l'étuve à 50° et on reprend par l'éther de pétrole sec [PE=30°-50°]. On filtre sur amiante; après évaporation et séchage une heure à 50°, on pèse.

Cet insaponifiable total est constitué par la cholestérine et des lipoïdes X insaponifiables. Ces lipoïdes sont entraînés en partie par la cholestérine dans le dosage pondéral de Grigaut [1] et ne partent que difficilement à haute température.

Ovarines	Pour 2 gr.	Pour 100
Génisse	0 gr. 059	2 gr. 95
	0 gr. 058	2 gr. 90
Truie	0 gr. 061	3 gr. 05
	0 gr. 061	3 gr. 05
Jument	0 gr. 041	2 gr. 05
Brebis	0 gr. 057	2 gr. 85

Acides gras. — La récupération des acides gras se fait dans le liquide hydroalcoolique. Ce liquide, recueilli dans

[1] Lemeland. *Bull. Soc. Chimie Biol.*, 1921, p. 143.

un vase de 400 à 500 cc., est chauffé au bain-marie jusqu'à départ de l'alcool (réduction de moitié du volume primitif.

La solution aqueuse de savons ainsi obtenue est transvasée quantitativement dans une ampoule à décantation. On acidifie nettement par l'acide chlorhydrique étendu au tiers. On extrait trois fois, par l'éther sulfurique ordinaire, en employant successivement: 100 cc., 50 cc., 50 cc. de solvant.

Les extraits éthérés réunis sont immédiatement évaporés dans un ballon; le résidu est séché en s'aidant du vide après adjonction de quelques centimètres cubes d'alcool absolu.

On reprend alors directement par l'éther de pétrole sec [PE=30 à 50°], on filtre sur amiante dans un flacon taré. On évapore l'éther de pétrole au bain-marie. Les acides gras sont séchés 3 heures, à 65°, en présence de KOH à l'étuve à vide. Les acides gras totaux obtenus sont pesés.

Ovarines	Pour 2 gr.	0/0
Génisse	0,166	8 gr. 30
	0,165	8 gr. 25
Truie	0,158	7 gr. 90
	0,156	7 gr. 80
Jument	0,125	6 gr. 05
	0,127	6 gr. 35
Brebis	0,121	6 gr. 05

Des poudres d'ovaires, celle de génisse est la plus riche en acides gras, celle de brebis étant la plus pauvre. Par contre, la poudre d'ovaire de truie à la teneur la plus élevée en insaponifiable total.

TROISIÈME PARTIE

CHAPITRE UNIQUE

DETERMINATION DU pH+ DES POUDRES D'OVAIRES

La concentration en ions hydrogène joue un rôle capital dans les scissions enzymatiques. Des milieux organiques, en apparence semblables, peuvent présenter des différences dans leur concentration en ions H^+. Nous avons pensé que la détermination de la valeur du pH^+ des poudres d'ovaires pourrait nous fournir un élément de différenciation.

Nous avons adopté, pour cette étude, la méthode colorimétrique de Sœrensen [1].

Généralités. — Pour expliquer les phénomènes d'électrolyse, Arrhenius émettait l'hypothèse que les électrolytes dissous dans l'eau ou fondus, sont décomposés d'une façon plus ou moins complète ou dissociés en ions. La proportion d'électrolyte non décomposé est d'autant plus faible que la solution est plus étendue.

Une solution aqueuse de chlorure de sodium, de faible

[1] Sœrensen. Etudes Enzymatiques. *C. R. du Laboratoire de Carlsberg,* 1909, volume VIII, livraison 1.

concentration ne contiendrait que peu de NaCl, mais contiendrait un mélange d'ions chlore et d'ions sodium fortement chargés d'électricité négative pour les ions Cl, et positive pour les ions sodium. L'électricité, dont les ions sont chargés, ne se manifeste pas extérieurement, il se forme, en effet, simultanément, deux ions chargés d'électricité contraire, les actions se neutralisent. Les propriétés chimiques des ions seraient profondément modifiées du fait de leur électrisation.

Cette théorie de la dissociation électrolytique est aujourd'hui universellement acceptée.

L'ion H^+ est commun à tous les acides et l'on peut lui attribuer les propriétés de tous ces corps. Les acides sont des composés capables de perdre des ions H^+ et les bases, par suite, des composés capables de perdre des ions OH^- et les sels, tous les autres composés qui forment les ions.

Le caractère acide se manifeste d'autant fortement qu'il y a plus d'ions H^+ dans un volume déterminé de solution. Si les méthodes titrimétriques ordinaires ne peuvent fournir que l'acidité potentielle, la détermination des ions H^+ libres renseignera sur l'acidité absolue de la liqueur essayée.

La réaction d'une solution aqueuse peut être définie comme le rapport de la teneur en ions H^+ à celle en ions OH^- si $\frac{OH}{H} = 1$, on a la neutralité absolue et selon que ce rapport sera inférieur ou supérieur à l'unité, la réaction sera acide ou alcaline.

En réalité, l'état neutre est défini par l'eau pure, pour laquelle ce rapport est différent de l'unité. A 18° elle contien 10^{-7} atomes grammes de H et 10^{-7} molécules grammes au litre de OH.

Sœrensen a proposé de noter la concentration en ions H^+ en écrivant l'inverse du logarithme de cette concentration en ions H^+. Ainsi, $pH^+ = 5$ indique une concentration en ions H^+ égale à 10^{-5} ou $\frac{1}{100.000}$ atomes grammes d'H.

Pour la détermination de cette concentration en ions H^+ deux méthodes : une méthode électrochimique, une méthode colorimétrique.

Pour mesurer la valeur du pH^+ de nos poudres d'ovaides, nous avons adopté la méthode colorimétrique.

Méthode colorimétrique. — Cette méthode est basée sur l'emploi d'une série de colorants (phtaléines sulfonées), chaque indicateur virant dans une zone bien limitée et donnant pour une faible variation du pH^+ toute une gamme colorée [1].

Colorants de Clarck		Zone du virage sensible pour pH+ 1re teinte	2e teinte
Thymolsulfone-phtaleïne.....	Bleu de Thymol.....	rouge 1,2	jaune 2,8
Tétrabromophenol sulfone phtaleïne..	Bleu de Bromophenol	jaune 3,0	bleu 4,6
O. Carboxy benzène azo dimétylaniline	Rouge de Méthyle..	rouge 4,4	jaune 6,0
Dibromo. O. Crésol sulfone phtaleïne.	Bromocrésolpourpre .	jaune 5,2	pourpre 6,8
Dibromo thymol sulfone phtaleïne...	Bleu de Bromothymo	jaune 6,0	bleu 7,6
Phenol sulfone phtaleïne.....	Rouge de Phénol....	jaune 6,8	rouge 8.4
O. Cresolsulfone phtaleïne.....	Rouge de Crésol....	jaune 7,2	rouge violet. 8,8
Thymolsulfone phtaleïne..... (2e virage)	Bleu de Thymol....	jaune 8,0	bleu 9,6

Solutions colorantes. — S'obtiennent en dissolvant 0 gr. 10 de colorant dans 500 cc. d'alcool à 95° et diluant

[1] Guillaumin. Sur la détermination colorimétrique de la concentration en ions H^+ des liquides biologiques. *Journal Pharmacie et Chimie*, 1922, t. xxv, p. 175 et 221.

à 800 cc. avec de l'eau *bi-distillée* neutre. Ces solutions s'emploient à la dose de 0 cc 5 pour 10 cc^3 de liquide.

Eau distillée neutre. — L'eau distillée neutre est obtenue par une première distillation, avec quelques centimètres cubes d'une solution de bichromate de potasse, additionnée de SO^4H^2. Distillation suivie d'une seconde avec de la baryte.

L'eau bidistillée obtenue est conservée en ballons de verre, de petite capacité, bien fermés. Si, malgré ces précautions, l'eau se charge de CO^2 et devient légèrement acide, nous portons doucement à l'ébullition et laissons refroidir avant l'utilisation.

Préparation des solutions étalons. — Pour la préparation des solutions étalons, nous nous sommes adressés aux mélanges de phosphates et aux mélanges de citrates.

1° *Mélanges de phosphates.* — Nécessitent deux solutions mère M/15:

a) Solution de PO^4KH^2 contenant 9 gr. 078 de sel dans un litre d'eau distillée. La solution obtenue doit être limpide et ne contenir ni chlorures, ni sulfates. Elle possède une concentration en ions H^+ de 4.55.

b) Solution de PO^4Na^2H contenant 11 gr. 876 du sel à 2 H^2O ou 23 gr. 866 du sel PO^4Na^2H à 12 H^2O.

Cette solution a un pH^+ de 9.24.

En mélangeant ces deux solutions dans des proportions déterminées, on obtient des liquides dont la concentration en ions H se situe entre 4.55 et 9.24.

2° *Mélanges de citrates* [1]. — On fait une première solution d'acide citrique M/10 en dissolvant 21 gr. 008 d'acide citrique à une molécule d'eau dans 500 cc. d'eau. On véri-

[1] Sœrensen, p. 35 et 39.

fie l'acidité de cette solution par titrage au moyen de $Ba(OH)^2$ N/5 en se servant de phénolphtaléine comme indicateur. « On titre jusqu'à coloration nettement rouge et non jusqu'à teinte lègérement rose. Malgré le précipité de citrate de Baryum, le virage est fortement accusé, Quand on se sert d'une solution de NaOH N/5 la liqueur reste limpide, mais le virage est moins prononcé. »

Mélanges de Phosphates

pH+	PO^4KH^2	PO^4Na^2H
5	98 cc. 5	1 cc. 5
5,5	95 cc. 5	4 cc. 5
5,7	93 cc. 2	6 cc. 8
5,9	90	10
6,0	87 cc. 5	12 cc. 5
6,1	84 cc. 5	15 cc. 5
6,2	80 cc. 6	19 cc. 4
6,3	77	23
6,4	73	27
6,5	68	32
6,6	63	37
6,7	56 cc. 4	43 cc. 6
6,8	51	49
6,9	42 cc. 5	57 cc. 5
7	37	63
7,1	32	68
7,2	27	73
7,3	23	77
7,4	19	81
7,5	15 cc. 8	84 cc. 2
7,6	13 cc. 2	86 cc. 2
7,7	11	89
7,8	8 cc. 8	91 cc. 8
7,9	7 cc. 0	93
8	5 cc. 6	94 cc. 4
8,2	3 cc. 2	96 cc. 8
8,4	2	98
8,6	1	99

Mélanges de Citrates

pH+	Citrate Soude	HCl. N/10
4,958	10 cc.	0 cc.
4,88	9 cc. 5	0 cc. 5
4,83	9	1
4,65	8	2
4,44	7	3
4,15	6	4
3,948	5 cc. 5	4 cc. 5
3,69	5	5
3,52	4 cc. 75	5 cc. 25
3,36	4 cc. 5	5 cc. 5
2,97	4	6
2,27	3 cc. 33	6 cc. 67
1,92	3	7
1,41	2	8
1,17	1	9
1,03	0	10

Mélanges de Citrates

pH+	Citrate Soude	NaOH N/10
4,958	10 cc.	0 cc.
5,023	9 cc. 5	0 cc. 5
5,109	9	1
5,314	8	2
5,568	7	3
5,969	6	4
6,331	5 cc. 5	4 cc. 5
6,678	5 cc. 25	4 cc. 75

A 500 cc. de cette solution contenant 21 gr. 008 d'acide citrique, on ajoute 200 cc. d'une solution normale de NaOH et on complète à 1.000 cc. avec de l'eau neutre.

En mélangeant des quantités déterminées de cette solution de citrate de soude et de HCl N/10 ou de NaOH N/10 on obtient des solutions étalons dont la concentration en ions H^+ varie entre 1,03 et 12,36.

Détermination du pH+ des poudres d'ovaires. — Nous plaçons 0 gr. 50 de poudre d'organe dans 50 cc. d'eau bidistillée sensiblement neutre ($pH^+ = 6.6$). Nous ajoutons V gouttes de toluène et abandonnons à l'étuve à 35° pendant vingt-quatre heures.

Nous filtrons et déterminons la concentration en ions hydrogène de ces filtrats, ainsi que celle de leurs dilutions, au cinquième.

Sur ces divers liquides, nous procédons à deux essais préalables pour établir le choix des mélanges étalons et de l'indicateur coloré.

Pour cela, nous déposons dans une série de godets de porcelaine environ 1 cc. du liquide à essayer et I goutte de chaque colorant. Dans le cas de nos macérés ovariens, le bleu de thymol, le bleu de bromophénol, le rouge de méthyle donnent immédiatement la teinte limite. Le rouge de phénol et le rouge de crésol ne virent pas. Ce premier essai nous permet donc d'arrêter notre choix sur le bromocrésol pourpre et le bromothymol bleu. Nous les employons concurremment. A 10 cc. du liquide à essayer nous ajoutons alors 1/2 cc. de la solution colorante et comparons la teinte obtenue avec les planches colorées de Clark [1].

---

[1] Clark. The determination of hydrogen sons. Williams and Wilkins C°, Baltimore, 1922, p. 51 et 52.

Cette comparaison nous donne la valeur approximative du pH+ du liquide essayé.

A l'aide des solutions tampons, nous préparons le mélange correspondant au pH+ trouvé, ainsi que les mélanges de concentration ionique voisine (immédiatement inférieur et supérieur).

Pour comparer le liquide à essayer avec les solutions étalons, nous employons un support maintenant les tubes inclinés à 35-40° sur un fond horizontal blanc.

Dans le cas où la liqueur expérimentée est légèrement trouble, nous provoquons un trouble analogue dans les liqueurs de comparaison. Pour cela, nous ajoutons quelques gouttes d'une suspension dans l'eau neutre de sulfate barytique [1] fraîchement précipité, suspension obtenue en mélangeant ensemble :

2 cc. d'une solution M/10 de $BaCl^2$ [2 gr. 44 %]
2 cc. d'une solution M/10 de SO^4K^2 [1 gr. 74 %]

Voici les résultats obtenus :

Ovarines	pH+			
			Dilution au 1/5	Moyenne
Génisse	5,8	5,7	5,8	5,75
Truie	6,0	6,0	5,8	5,93
Jument	5,95	5,95	6,0	5,97
Brebis	6,1	6,5	6,6	6,40

Ce tableau nous indique que les ovaires de brebis se différencient assez nettement des autres ; ce sont ceux, en effet, qui présentent une concentration ionique la plus rapprochée de la neutralité.

---

[2] Sœrensen, p. 73.

QUATRIÈME PARTIE

RECHERCHE DES FERMENTS DANS LES POUDRES D'OVAIRES

Lépinois [1] signale la présence dans le tissu ovarien d'une catalase et d'une péroxydiastase.

Walter Löb et S. Gütmann [2], partant d'ovaires de truie, débarrassés de sang, desséchés et dégraissés par C^6H^6 trouvent: catalase, amylase, lipase, pepsine, trypsine, uréase et nucléase. Par contre, il n'y a pas: invertine, péroxydase, lactase, désamidase, tyrosinase.

Nous nous sommes limités à la recherche: de l'invertine, de l'amylase, de la pepsine et de la trypsine.

---

[1] Lepinois. Thèse doctorat en Pharmacie, Paris, 1899, p. 75 et 79.

[2] Walter Lob et S. Gutmann. Zur Kenntnis del Enzym des Ovarien. *Biochemische Zeitschrift*, juin 1912, p. 445. *In Journal de Physiologie et Pathologie générale*, 1913, t. xv, p. 159.

CHAPITRE PREMIER

DIASTASES DES HYDRATES DE CARBONE
INVERTINE ET AMYLASE

Invertine. — Sœrensen a montré que le pouvoir diastasique d'une sucrase variait avec la concentration ionique du milieu; que, dans des solutions ayant une « concentration en ions H^+ inférieure à $10^{-3,7}$-$10^{-3,8}$ (correspondant à un pH^+ supérieur à 3,7-3,8), il ne se produisait pas d'effet inversif mesurable et provenant des ions H^+ seuls ». C'est pourquoi, dans la recherche de la sucrase dans les ovarines, nous avons fait agir des macérés de poudre sur une solution de saccharose à 20 %, dont nous faisions varier la concentration en ions H^+ par addition de SO^4H^2 N/100.

La solution de saccharose seule présentait un pH^+=5,9. Par addition de SO^4H^2 N/100 dans la proportion de 1/2 cc. pour 25 cc. de solution sucrée, la concentration en ions H^+ devenait égale à 3,7.

Sur 25 cc. de chaque solution sucrée, nous avons fait agir:

1° 2 cc. 5 de solution supposée diastasique obtenue en faisant macérer vingt-quatre heures à l'étuve à 35° 0 gr. 20 d'ovarine dans 20 cc. eau neutre additionnée de V gouttes de toluène;

2° 2 cc. 5 du même macéré porté à l'ébullition (ce qui nous permettait de déterminer dans la mesure du pouvoir diastasique la part due aux ions H seuls).

Nous notons l'heure à laquelle le macéré d'ovaire est mis en contact avec les 25 cc. de solution sucrée et portons à l'étuve à 35°. Nous portons également à l'étuve deux flacons témoins contenant: l'un 25 cc. de solution sucrée seule, l'autre 25 cc. de solution sucrée, additionnée de 0 cc.³ 5 de SO^4H—$\frac{N}{100}$

Au bout de deux heures, nous arrêtons l'action diastasique avec V gouttes de soude à 40 %.

Sur ces divers liquides, nous pratiquons le dosage du sucre interverti selon la méthode de G. Bertrand, en utilisant, suivant les indications de Canals [1], le bain-marie à 100°. L'action du sucre interverti sur la liqueur de Fehling étant complète au bout de dix minutes.

TABLEAU A $pH^+ = 5,9$

(25cc³ de solution de saccharose à 20 0/0 additionnés de)

Ovarines	2cc5 macéré ovarien	2cc5 macéré bouilli	Témoin
Génisse .	10	15,0	16
Truie ...	15,5	14	16
Jument ..	14	10	16
Brebis .. .	11	17	16

Sucre interverti en milligrammes

[1] CANALS. Sur l'intervention du saccharose dans la liqueur cupro alcaline. *Bul. Soc. Chimie*, 1922, p. 583.

Tableau B $pH^+ = 3,7$

(25cc[3] de solution saccharose 20 0/0 + 0cc[3]5 de SO^4H^2 N/100 p. $H+ = 3.7$) additionnés de

Ovarines	2cc5 macéré ovarien	2cc5 macéré bouilli	Témoin
Génisse .	10	13,5	23,5
Truie ...	10	14,0	23,5
Jument .	14	11,5	23,5
Brebis ..	15	10	23,5

Sucre interverti en milligrammes

Dans l'un et l'autre cas ($pH^+ = 5,9$ ou $pH^+ = 3,7$), le macéré d'ovaire n'a aucune action diastasique. Il semble même que l'inversion du saccharose est entravée par sa présence (même par la présence du macéré bouilli). Les quantités de sucre interverti sont, en effet, moindres dans les flacons contenant saccharose plus macéré, que dans les flacons témoins contenant la solution sucrée seule.

Craignant que les quantités de sucrase mises en œuvre dans cette première série d'expériences aient été insuffisantes, nous avons alors fait agir directement à l'étuve à 35° 0 gr. 10 d'ovarine sur 25 cc. de solution sucrée. Au bout d'une heure, nous arrêtons l'action diastasique avec V gouttes NaOH à 40 %. Puis nous filtrons au Büchner, prélevons 20 cc. de liquide et y dosons le sucre interverti.

Dans cette seconde série d'expériences, nous avons préparé des flacons témoins avec 25 cc. solution sucrée et 0 gr. 10 ovarine, mais en détruisant la diastase (supposée existante) par un chauffage de vingt minutes au bain-marie bouillant. Puis nous portons une heure à l'étuve à 35°, filtrons au Büchner et prélevons 20 cc. de liquide sur lesquels nous pratiquons le dosage du sucre interverti.

Ovarine génisse

		Sucre interverti en milligrammes
Flacon I	25 cc³ solution saccharose 20 0/0 0 gr. 10 ovarine Une heure à l'étuve à 35°.....	17,5
Flacon témoin	25 cc³ solution saccharose 20 0/0 0 gr. 10 ovarine Vingt minutes au B. M. bouillant et une heure à l'étuve à 35°..	18

Ovarine brebis

Flacon I	25 cc³ solution saccharose 20 0/0 0 gr. 10 ovarine Une heure à l'étuve à 35°.....	18
Flacon témoin	25 cc³ solution saccharose 20 0/0 0 gr. 10 ovarine Vingt minutes au B. M. bouillant et une heure à l'étuve à 35°..	19,5

Ici également la quantité de sucre interverti est moindre dans les flacons contenant solution sucrée et ovarine que dans les flacons témoins ayant subi le chauffage au bain-marie bouillant.

Nous pouvons donc nettement conclure à l'absence d'invertine dans les poudres d'ovaires.

AMYLASE

Sous le nom d'amylase, on désigne un ensemble de ferments qui, mis en présence d'empois d'amidon, le liquéfient d'abord, puis le transforment en dextrines et maltose.

Il y aurait dans cet ensemble trois diastases : une diastase liquéfiante, qui solubilise l'amidon, une diastase dextrinisante, qui fait passer l'amidon soluble à l'état de

dextrines, et une diastase saccharifiante proprement dite, qui transforme les dextrines en maltose.

L'amylase agit sur l'amidon transformé en empois par la chaleur; elle agirait également, quoique très faiblement, sur l'amidon cru.

Les ferments amylolytiques (très répandus dans la nature: pancréas, salive, orge, pomme de terre, sérum, sueur) ne seraient pas identiques.

Pour rechercher l'amylase, nous avons préparé une série d'empois de la façon suivante:

On pèse 6 grammes de fécule de pommes de terre. On les introduit dans une fiole d'Erlenmeyer de 250 cc. et on ajoute 100 cc. d'eau distillée vérifiée neutre. On fait un empois en plongeant la fiole pendant trois minutes dans un grand bain-marie bouillant et en agitant violemment pendant toute la durée de la cuisson. On porte au bain-marie à 55° pendant un quart d'heure.

Nous ajoutons alors dans les fioles:

A. 0 gr. 05 pancréatine codex.
I. 0 gr. 05 ovarine génisse.
II. 0 gr. 05 — brebis.
III. 0 gr. 05 — truie.
IV. 0 gr. 05 — jument.

Nous maintenons la température de 55° pendant une heure en agitant énergiquement de temps en temps.

Les fioles, à leur sortie du bain-marie, sont plongées deux minutes dans l'eau bouillante pour tuer le ferment et refroidies rapidement.

	Liquéfaction de l'empois	Maltose formé
A Pancréatine codex	+	3 gr. 25
I Ovarine génisse	—	0
II Ovarine brebis	—	0
III Ovarine truie	—	0
IV Ovarine jument	+	Traces

Des poudres d'ovaires, seule celle de jument produit la liquéfaction de l'empois d'amidon. La quantité de maltose formé n'est nullement comparable à celle fournie par l'amylase pancréatique. Mais nous pouvons conclure à la présence d'amylase dans la poudre d'ovaires de jument.

CHAPITRE II

RECHERCHE DES FERMENTS PROTEOLYTIQUES

Diastases protéolytiques des tissus animaux. — Dans les tissus animaux, les ferments protéolytiques, de beaucoup les plus importants, sont représentés par la pepsine et la trypsine. Mais, à leurs côtés, il existe toute une série de diastases protéolytiques qui produiraient les phénomènes de l'autolyse. A l'attaque des acides aminés provenant du travail pepsique et trypsique sont adaptées des diastases spéciales. La muqueuse intestinale, le foie contiennent une arginase dédoublant l'arginine en ornithine et urée. Nucléase, adénase, guanase assurent la dégradation des nucléoprotéides.

Pepsine. — La condition essentielle du clivage pepsique est l'acidité du milieu, l'acide d'élection étant l'acide chlorhydrique. L'action hydrolysante de la pepsine augmente avec la température jusqu'à un optimum, pour retomber ensuite à zéro, optima entre 40° et 60° elle est détruite à 100°.

Le dédoublement pepsique se ferait en plusieurs phases. La première phase conduit à la formation de la syntonine ou parapeptone. Elle résulte de l'action de l'acide seul et non point de celle de la pepsine.

Dans une seconde phase, la pepsine agissant sur la syntonine, fournit des albumoses ou propeptones.

Dans une trosième phase, l'albumose est dédoublée en peptones, termes ultimes de la désagrégation pepsique.

Trypsine. — Très répandue dans le règne animal, la trypsine agit comme la pepsine sur les albuminoïdes. Mais tandis que la pepsine n'agit qu'en milieu acide, la trypsine, elle, exige un milieu neutre ou légèrement alcalin.

Ce qui fait la caractéristique essentielle du travail trypsique, c'est qu'il consiste en une dégradation de la molécule protéique beaucoup plus profonde que l'hydroylse pepsique. Très rapidement, il apparaît dans le clivage trypsique de la tyrosine, du tryptophane de la leucine.

Diagnose des digestions pepsique et trypsique. — On peut distinguer une digestion trypsique d'avec une digestion pepsique, en mettant en évidence la tyrosine formée au moyen d'une solution aqueuse de tyrosinase [tyrosinase du russula delica ou tyrosinase du son).

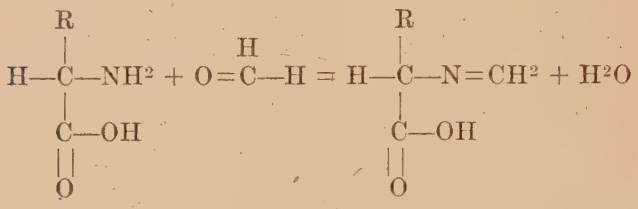
Les produits de la digestion pepsique donnent une coloration rouge devenant verte après quelque temps. Ceux d'une digestion trypsique donnent une coloration rouge passant au brun, puis au noir. Le liquide doit être parfaitement neutralisé avant l'addition de la tyrosinase, sinon les colorations indiquées ne se produisent pas.

Enfin, le tryptophane peut être caractérisé dans une digestion trypsique par la formation d'un précipité jaune rougeâtre, au moyen de quelques gouttes d'eau de brome, ajoutées peu à peu.

Dosage des acides aminés libérés. — Les acides aminés, matériaux élémentaires de la molécule protéique, appa-

raissent à la fin du clivage de ces molécules. Ils sont peu abondants après une digestion pepsique, beaucoup plus abondants après la digestion trypsique.

Si l'on ajoute du formol à un liquide contenant un acide aminé, le formol réagit sur le radical —NH^2 et opère le « bloquage de la basicité ».



La molécule prend alors un caractère acide, acidité mesurable au moyen de NaOH.

Méthode de Sœrensen. — On prélève 10 cc. du digestat, on ajoute 10 cc. d'eau puis X gouttes de solution de phénolphtaléine, enfin de la soude à neutralisation.

On ajoute alors 25 cc. de formol commercial exactement neutralisé. La coloration rose disparaît par suite de la libération des radicaux acides. On verse ensuite de la soude décinormale jusqu'à réapparition de la teinte rose On note le volume N de soude versée. Les résultats s'expriment généralement en centimètres cubes de NaOH N/10 employés. On peut également les exprimer en azote, en appliquant la formule :

$$0{,}0014 \times N \times \frac{V}{10}$$

N représentant le nombre de cc de Na OH — versés après addition de formol, et augmentés de 1/30 et V. le volume total du digestat.

I

Recherche des ferments pepsiques. — Nous avons préparé dans les conditions prescrites au codex, pour l'essai d'une pepsine [1] une série de flacons: 1° avec fibrine; 2° sans fibrine.

a) *Avec fibrine.* — Dans cette première série, nous avons introduit dans chaque flacon:

2 gr. 50 Fibrine desséchée
58 cc. 50 d'eau.
1 cc. 50 HCl dilué

Nous portons au bain-marie, à 50°, quelques minutes, et ajoutons, en:

A 0 gr. 10 d'ovarine génisse
B 0 gr. 10 d'ovarine brebis
C 0 gr. 10 d'ovarine truie
D 0 gr. 10 d'ovarine jument
en *a* 0 gr. 10 pepsine codex
b 0 gr. 10 fibrine seule

---

[1] Dans un flacon à large ouverture, introduire: 2 gr. 50 de fibrine desséchée, 58 cc. 50 d'eau distillée, « homogénéiser » et 1 cc. 50 d'HCl dilué.

Porter au bain-marie, à 50 degrés, jusqu'à ce que le mélange ait atteint la même température. Ajouter 0 gr. 10 de pepsine et faire digérer pendant six heures, en ayant soin, au début, d'agiter fréquemment, jusqu'à dissolution complète de la fibrine et ensuite toutes les heures environ.

II° *Flacons sans fibrine.* — Afin de pouvoir déterminer quelle part attribuer à l'autolyse des poudres d'ovaires dans le dosage des acides aminés, nous avons préparé, sans fibrine, quatre flacons contenant respectivement:

58 cc. 50 eau distillée
1 cc. 50 HCl dilué

et en

a 0 gr. 10 ovarine génisse
b 0 gr. 10 ovarine brebis
c 0 gr. 10 ovarine truie
d 0 gr. 10 ovarine jument

Le tout est porté au bain-marie à 50°, agité de quart d'heure en quart d'heure.

Nous n'observons de dissolution de la fibrine qu'en *a* [flacon témoin, contenant 0 gr. 10 d'une pepsine codex]

Au bout de six heures de digestion, nous avons filtré et pratiqué l'essai à l'acide azotique, ainsi que le dosage des acides aminés, selon la méthode de Sœrensen.

Flacons avec fibrine	Liquéfaction fibrine	Touche azotique	Méthode Sœrensen en cc. NaOH N/10	Flacons sans fibrine acides aminés par Sœrensen
a Pepsine.....	+	—	2 cc. 2	
ε Fibrine seule	—	+	0 cc. 5	
A Genisse.....	—	+	0 cc. 4	a néant
B Brebis.....	—	+	0 cc. 5	b néant
C Truie.....	—	+	0 cc. 4	c néant
D Jument.....	—	+	0 cc. 4	d néant

Les chiffres consignés dans ce tableau ne nous permettent pas de conclure à la présence de ferments pepsiques dans les poudres d'ovaires. Même en augmentant, doublant et triplant la quantité de poudre d'ovaire mise en œuvre, nous n'obtenions pas plus la liquéfaction de la fibrine.

II

Recherche des ferments trypsiques. — Nous avons procédé, d'une façon identique, pour la recherche des ferments trypsiques. Dans une série de flacons nous introduisons :

Fibrine desséchée. 2 gr. 50
Eau distillée.... 60 cc.

Après une digestion de trente minutes au bain-marie, à 50°, nous ajoutons les flacons :

a 0 gr. 20 de pancréatine codex
b flacon avec fibrine seule
A 0 gr. 20 ovarine génisse
B 0 gr. 20 ovarine brebis
C 0 gr. 10 ovarine Truie
D 0 gr. 20 ovarine jument

Nous laissons six heures au bain-marie à 50°, en agitant fréquemment.

Seul, le digestat pancréatique nous donne un liquide filtrant bien et ne précipitant pas par No^3H.

	Liquéfaction	Touche azotique	Sœrensen en cc. NaOH N/10
	—	—	—
a Pancréatine	+	—	13 cc.
b Fibrine seule...	—	+	0 cc. 4
A Génisse	—	+	0 cc. 3
B Brebis	—	+	0 cc. 4
C Truie	—	+	0 cc. 5
D Jument	—	+	0 cc. 4

Rien ne nous autorise donc à conclure à la présence de trypsine dans les poudres d'ovaires.

CONCLUSIONS

L'ovaire ne mérite le nom de glande sexuelle que si on envisage les éléments de sa sécrétion interne.

Le tissu interstitiel n'existerait point dans l'ovaire des mammifères supérieurs. La sécrétion interne serait élaborée par le corps jaune.

Les auteurs, qui se sont occupés du principe actif des poudres d'ovaires, pensent, en général, que celui-ci est de nature lipoïdique. Ces auteurs ayant utilisé des méthodes d'extraction différentes, les principes isolés doivent être chimiquement différents : lipoïdes ovariens II Fa et VDc et lipoïdes VDa du corps jaune (Iscovesco), substance ternaire voisine de la cholestérine (Hermann).

Mais on comprend l'extrême complexité d'une étude concernant l'attribution de l'activité thérapeutique à telle catégorie d'éléments plutôt qu'à telle autre.

Aussi n'avons-nous eu que l'intention d'apporter ici quelques données analytiques, sans prétendre en tirer de règles de grande portée générale.

Dans nos poudres types, nous avons déterminé le pourcentage des cendres insolubles et des cendres solubles. Avec les cendres insolubles, nous avons évalué l'alcalinité et dans la partie soluble nous avons dosé les chlorures.

La composition des cendres solubles est à peu près constante, quelle que soit l'origine de la poudre d'ovaire ; mais la teneur en cendres insolubles est très variable, les ovaires de génisse en renfermant 2,66 0/0 et ceux de brebis 8,32 0/0.

Faut-il voir dans cette différence une question d'espèce animale, ou bien cette différence provient-elle du fait que les ovaires de brebis se trouvaient mélangés d'organes vieux, riches en tissus sclérosés ?

Nous avons également recherché et dosé deux éléments catalytiques importants : le manganèse et le zinc.

Toutes les poudres d'ovaires contiennent des traces de manganèse. Leur teneur en zinc est plus élevée, les ovaires de génisse étant les plus riches, ceux des brebis les plus pauvres.

En admettant, avec Bouin et Ancel, Iscovesco, Hermann, que le principe actif des ovarines est de nature lipoïdique, les ovaires de génisse et ceux de truie seraient ceux à employer en opothérapie. Ce sont eux, en effet, dont la teneur en lipoïdes insaponifiables et en acides gras est la plus élevée.

Si, d'autre part, on pense avec G. Bertrand, que le zinc peut intervenir dans la fonction de reproduction, les ovaires de génisse et de truie, les plus riches en cet élément, sont encore ceux qu'il convient de conseiller en thérapeutique.

Les ovaires de brebis se différencient assez nettement des autres par leur concentration ionique. Ce sont ceux qui présentent une réaction la plus rapprochée de la neutralité.

Nous n'avons décelé dans les poudres d'ovaires ni invertine, ni pepsine, ni trypsine. Seule, l'amylase existerait dans la poudre d'ovaires de jument.

BIBLIOGRAPHIE

Astruc (A.). — Traité de pharmacie galénique, 1921. Maloine.

— La Pharmacie galénique d'aujourd'hui. Conférence universitaire, Montpellier, 1923.

Baumé. — Eléments de Pharmacie, 1797, p. 77.

Bertrand (G.). — Recherche et dosage de petites quantités de manganèse, en particulier dans les substances organiques. *Bul. Sciences Pharmacologiques,* 1911, page 195.

Bertrand et Benzon. — Sur l'importance du zinc dans l'alimentation des animaux. Expériences sur la souris. *C. R. Ac. Sciences,* juillet 1922, t. CLXXV, page 289.

Bertrand et Javillier. — *Bulletin Société Chimie,* 1908, t. III, p. 115-117.

Bertrand et Thomas. — Guide pour les manipulations de chimie biologique. (Dunod, édit.)

Bertrand et Vladesco. — *Bulletin Société Chimie,* 1921, t. XXIX, p. 53.

— *Bulletin Société Chimie,* août 1922, p. 796-799.

Bouin et Ancel. — *C. R. Ac. Sciences,* 1910, t. CLI, p. 1391.

Branca. — Histologie, 1906. Baillière, p. 603.

Brown-Séquard. — C. R. Société Biologie, juin 1889, p. 415.

Brown-Séquard et d'Arsonval. — C. R. Société Biologie, avril 1891, p. 215.

Byla. — Les produits biologiques médicaux, 1904.

Canals (E.). — Sur l'intervention du succharose dans la liqueur cuproalcaline. *Bul. Soc. Chimie,* 1922, p. 583.

Canals (E.) et Coutanceau (P.). — Quelques recherches sur les poudres d'ovaires. Congrès pour l'avancement des Sciences, Bordeaux, 1923.

Carnot. — Opothérapie. (Baillière), p. 325.

Clark. — The determination of hydrogen ions. (Williams and Wilkins C°, Baltimore, 1922), p. 51 et 52.

Dalché. — Tétanie de la ménopause. Opothérapie ovarienne. Communication Soc. Thérapeutique. *In Journal Pharmacie et Chimie,* 1909, p. 80.

Escher. — Uber den Farbstoff des Corpus Luteum. *Zeitsch. f. Physiol. Chem.,* 1913, p. 198. *In Journal de Pharmacie et Chimie,* 1913, t. viii, p. 126.

Fabre (R.). — Etude des méthodes nouvelles employées pour déterminer la réaction des solutions. *J. de Pharmacie et Chimie,* 1922, t. xxv, p. 26.

Fabre et Pénau. — Examens chimiques généraux des poudres opothérapiques. *J. Pharmacie et Chimie,* 1923, p. 281.

Gillet. — Formulaire des médications nouvelles, 1896, p. 173.

Gley. — Physiologie. (Baillière), 1921), t. ii, p. 736-739.

Guiard et Grimbert. — Précis de diagnostic chimique, p. 182.

Guillaumin. — Sur la détermination colorimétrique de la concentration en ions H+ des liquides biologiques. *J. Pharmacie et Chimie,* 1922, t. xxv, p. 175 et 221.

Icovesco. — Les lipoïdes. *Presse Médicale,* 1908, p. 457.

— *C. R. Soc. Biologie,* 1912, t. i, p. 859.

— *C. R. Soc. Biologie,* 1912, t. ii, p. 16, 104 et 189.

— *C. R. Soc. Biologie,* 1913, t. ii, p. 393.

Jadin et Astruc. — La répartition du manganèse dans le règne végétal. *J. Pharmacie et Chimie,* 1913, t. vii, p. 155.

Jayle. — Opothérapie ovarienne. *Presse Médicale,* 1896, p. 221.

Lambling. — Précis de Biochimie. (Masson), p. 69 et suivantes, et p. 105.

Lemeland. — Bul. Soc. Chimie Biologique, mai 1921, t. iii, p. 163.

— *Bul. Soc. Chimie Biologique,* février 1923, t. v, p. 111.

Lépinois. — Etude historique, chimique et pharmacologique des principales préparations opothérapiques. Thèse pharmacie, Paris, 1899, p. 37, 64, 75, 79.

Levi. — Bul. Sciences Pharmacologiques, 1912, p. 382.

Lob et Gutmann (S.). — Zur Kenntnis del Enzym der Ovarien. *Biochemische Zeitschrift,* juin 1912, p. 445. *In Journal de Physiologie et Pathologie générale,* 1913, t. xv, p. 159.

Lœw. — Cité par Lambling, p. 73.

Mulon (Mme). — Essai critique sur les rôles physiologiques du corps jaune. Thèse médecine, Paris, 1917.

Nafilyan. — Thèse médecine, Paris, 1913, p. 63.

Overton. — Cité par Lambling, p. 69.

Sœrensen. — Etudes enzymatiques. *C. R. du Laboratoire de Carlsberg,* 1909, vol. 8, livr. 1, p. 35-39-73.

Strecker. — Cité par Iscovesco. *Presse Médicale,* p. 458.

Tarbouriech. — Cours de chimie biologique.

Windaus et Dalmer. — Berichte der Deutschen chemischen. *Gesellschaft,* t. LII, p. 162. *In Bul. Soc. Chimie,* 1919, p. 345.

En ma qualité de Censeur de tour, j'ai lu la thèse ayant pour titre :

Quelques recherches sur les Poudres d'Ovaires

Par Pierre Coutanceau

Je pense que la Faculté peut en permettre l'impression.

Montpellier, le 25 Janvier 1924.

Le Professeur,

ASTRUC.

Vu :

Montpellier, le 26 Janvier 1924.

Le *Doyen,*

G. MASSOL.

Vu et permis d'imprimer :

Montpellier, le 28 Janvier 1924.

Le Recteur,

Jules COULET.

TABLE DES MATIERES

Pages

Introduction 7

PREMIERE PARTIE

Chapitre I

Données générales sur les ovaires, leurs glandes à sécrétion interne 11

Ovaires 11
Corps jaune 12
Cellules intersticielles 14

Chapitre II

Nature lipoïdique de substances actives sécrétées par l'ovaire et le corps jaune des mammifères 16

a) Extrait de Bouin et Ancel 16
b) Morcellement des lipoïdes constitutifs des organes 17
c) Lipoïdes ovariens II Fa et VDc 19
d) Lipoïde VDa du corps jaune 19
e) Lipoïde d'Hermann 20

Chapitre III

Opothérapie ovarienne 22

SECONDE PARTIE

Pages

Composition chimique des poudres d'ovaires 25

CHAPITRE I

Composition saline 27

A. Humidité 28

B. Cendres: Cendres solubles 28

Cendres insolubles 29

Chlorures 29

Alcalinité 30

CHAPITRE II

Le zinc et le manganèse dans les poudres d'ovaires ... 31

A. Manganèse 31

B. Zinc 34

CHAPITRE III

Teneur des poudres d'ovaires en lipoïdes insaponifiables et en acides gras 37

A. Lipoïdes. Classification. Rôle 37

B. Dosage des lipoïdes insaponifiables et des acides gras 40

Extraction 40

Saponification 41

Séparation des acides gras et de l'insaponifiable. 42

Insaponifiable total 43

Acides gras 43

TROISIEME PARTIE

Pages

Détermination du pH+ des poudres d'ovaires 45

Généralités 45
Méthode colorimétrique de Sœrensen 47
Préparation des solutions étalons 48
Mélanges étalons 49
Détermination du pH+ 50
Valeur du pH+ des ovarines 51

QUATRIEME PARTIE

Les ferments des poudres d'ovaires 53

Chapitre I

Diastases des hydrates de carbone 54
Invertine 54
Amylase 57

Chapitre II

Ferments protéolytiques 60
Pepsine 60
Trypsine 61
Diagnose des digestions pepsique et trypsique 61
Dosage des acides aminés 61
Recherche de la pepsine 63
Recherche de la trypsine 65
Conclusions 66
Bibliographie 68